도열병 내구 저항성 자포니카 벼품종 팔공의 저항성 관련 유전좌위 분석

백만기¹ · 조영찬^{1*} · 박현수¹ · 정종민¹ · 김우재¹ · 남정권¹ · 김춘송¹ · 권순욱² · 김보경¹

¹농촌진흥청 국립식량과학원, ²부산대학교 생명자원과학대학

Molecular Mapping of the Blast Resistance Loci in the Durable Resistance Japonica Rice Cultivar, Palgong

Man-Kee Baek¹, Young-Chan Cho^{1*}, Hyun-Su Park¹, Jong-Min Jeong¹, Woo-Jae Kim¹, Jeong-Kwon Nam¹, Choon-Song Kim¹, Soon-Wook Kwon², and Bo-Kyeong Kim¹

¹National Institute of Crop Science, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

²College of Natural Resources and Life Science, Pusan National Univ., Pusan 46241, Republic of Korea

Abstract Rice blast caused by the fungus *Magnaporthe grisea* (anamorphic: *Pyricularia oryzae*) is an important disease in rice and development of resistant varieties to blast is one of the most important goals in rice breeding programs. A japonica rice variety, Palgong, has shown resistance to the Korean blast pathogen since it was developed in 1996. Nine blast resistance quantitative trait loci (QTLs) in Palgong alleles were identified on chromosomes 2, 4, 7, and 11. Four QTLs of *qBn2.3*, *qBn4.2*, *qBn11.1*, and *qBn11.2* explained 28–56.7% of total phenotypic variation, while five QTLs of *qBn2.2*, *qBn2.4*, *qBn4.1*, *qBn7.1*, and *qBn7.2* explained 9.7–18.8%. In a previous study, one to four resistance genes were located on the loci *qBn2.2*, *qBn2.3*, *qBn4.2*, *qBn11.1*, and *qBn11.2*, however, resistance genes were not located on the loci *qBn2.4*, *qBn4.1*, and *qBn7.1*. A major QTL, *qBn11.2*, explaining 56.7% of total phenotypic variation was related to the durable resistance of Palgong. Additionally, rice stripe virus resistance of Palgong was assumed to be based on the *Stvb-i* gene, which is located on a major QTL *qBn11.2*.

Keywords rice, Palgong, blast, durable resistance, gene

Received on September 24, 2019. Revised on September 25, 2019. Accepted on October 25, 2019.

* Corresponding Author (E-mail: yccho@korea.kr, Tel: +82-63-238-5211, Fax: +82-63-238-5205)

서 언

쌀은 우리나라뿐만 아니라 전 세계 인구의 반 이상이 주식으로 먹는 주요 작물이다. 그러나 쌀 생산량은 세계 인구 증가에 따른 식량안보를 위협하는 많은 병해에 영향을 받는다. *Magnaporthe oryzae* (anamorphic: *Pyricularia oryzae*) 균계에 의해 발생하는 도열병은 벼를 재배하는 세계 모든 지역에서 모든 생육 단계별 식물체 부위에서 발병하여 가장 극심한 피해주어(Valent & Chumley 1991), 매년 세계적으로 10-30%의 수량 손실을 발생시키고 있으며 이는 50억 달러의 경제적 손실에 해당된다(Skamnioti & Gurr 2009). 이러한 도열병에 대한 재배안정성을 확보하는 방법은 저항성 유전자를 보유한 저항성 품종을 육성, 재배하는 것이며 이는 가장 효과적이고 경제적인 방법이다.

벼 육종가들과 도열병 연구자들은 도열병 저항성 유전자들을 탐색하고 육종 프로그램에 이들을 도입하려는 광범위한 노력을

기울였다. 도열병 저항성에 대한 좌위 또는 유전자는 100여 개 이상이 보고되었으며, 이들은 자포니카에서 45%, 인디카에서 51% 그리고 야생벼에서 4%가 탐색되었고(Ashkani et al. 2016, Koide et al. 2009, Wang et al. 2014), 이들 중 28개 저항성 유전자와 2개 QTLs가 cloning되어 기능이 밝혀졌다(Ashikawa et al. 2008, Hua et al. 2012, Lee et al. 2009, Okuyama et al. 2011, Takahashi et al. 2010, Yuan et al. 2011, Zhao et al. 2018). 이와 같은 성과에도 불구하고 도열병에 대한 안정 지속 저항성 품종 육성을 어렵게 하는 요인으로 도열병균 자체의 생활사가 매우 짧고 레이스 분화가 빨라 저항성의 지속적 유지가 어렵고(Zeigler et al. 1997), 육종의 효율과 편리성 때문에 지금까지 육성된 도열병 저항성 품종은 대부분 1-3 개의 주동 유전자를 가지고 있기 때문이다(Cho et al. 2007, Tabien et al. 2000). 따라서, 대부분 도열병 저항성 품종들은 농가 재배 후 1-5년 내 새로운 도열병 균계 분화에 의해 저항성이 이병화 되었다(Han et al. 2001).

도열병은 유묘기 발묘자리상태에서 잎도열병과 본답 성체에서 잎도열병, 목도열병의 이병성은 일치하지 않으며 도열병균 침해 레이스도 일정한 관련성이 없었다고 하였다(Shim et al. 2012). 그러므로 도열병에 대한 내구 저항성(durable resistance) 관련 유전자 또는 양적형질 유전자좌(QTL)의 탐색 및 활용으로 재배 안정성이 향상된 품종 개발이 절실히 요구되고 있다(Deng et al. 2006, Wang et al. 2012). 지금까지 우리나라에서 육성된 품종들 중 내구 저항성 품종으로 알려진 자포니카 품종은 팔공과 탐진이 있고, 통일형 품종은 태백과 가야가 있다(Roh et al. 2008). 이들이 보유한 저항성 유전자는 팔공이 *Pia*, *Pib*, 탐진이 *Pik*, *Pita*, 태백은 *Pib*, *Pi5*, *Pik-p*, 가야는 *Pib*, *Pita*, *Piz* 등 2~3개의 주동유전자(major gene)를 가지고 있는 것으로 밝혀졌다(Cho et al. 2007). 본 연구에서는 내구 저항성 자포니카 품종 팔공과 이병성 자포니카 고품질 품종 일품 간 교잡으로 육성된 F₁에 팔공을 여교잡하여 육성한 BC₁F_{7.8} BIL 집단을 육성하여 도열병 내구 저항성 관련 유전자를 분석하였다.

재료 및 방법

유전 분석 집단

팔공은 수량성이 높고 바이러스에 강한 HR1591-43-2-2-2와 조숙 다수성인 6542B3-16-3-B를 교잡하여 계통육종법으로 1986년 육성된 자포니카 벼 품종으로 현재까지 도열병 발묘자리 검정과 포장 잎도열병 및 이삭도열병 검정에서 안정적인 저항성을 보이고 있는 품종이다(Roh et al. 2008). 팔공과 도열병에 약하나 밥맛이 우수한 자포니카 품종 일품 간 교잡의 F₁에 팔공을 반복친 교배한 BC₁F₁을 육성한 후 교배번호 SR34097을 부여하였다. BC₁F₂ 이후 세대부터 BC₁F_{7.8} 세대까지 온실과 포장에서 개체별 단일 종자 수확 세대 진전(single seed descent, SSD)법으로 세대를 진전하여 169개 BILs (backcross inbred lines) 집단을 육성하였다(Fig. 1). 이들 BIL 집단 중 94 계통에 대해 잎도열병 발묘자리검정(blast nursery, Bn)을 실시하였고, 자포니카 유전적 배경의 SNP chip 분석으로 유전자 지도를 작성하여(Nagasaki et al. 2010), 저항성 관련 유전자 및 QTLs를 탐색하였다.

잎도열병 이병성 평가

BIL 집단에 대한 도열병 이병성 검정은 잎도열병 발묘자리 유묘검정으로 평가하였으며, 2013년 익산과 철원, 2014년에는 익산과 운봉 시험포장에서 실시하였다. 재식 거리는 줄 간격 10 cm, 길이 30 cm로 파종구를 만들어 계통별로 60~70립을

Fig. 1. Diagram for development of BC₁F_{7.8} population of backcross inbred lines (BILs).

6월 하순에 파종하였다. 검정 포장의 비료량은 밑거름으로 N-K₂O-P₂O₅ = 21-17-17 복합비료를 740 kg/ha 수준으로 시비하고, 추비는 파종 후 12일과 20일에 유안을 200 kg/ha 시비하였다. 잎도열병에 대한 이병성 정도 판정은 파종 후 30일경 이병성 품종이 최대 감수성 반응을 보일 때 달관으로 조사하였다. 잎도열병 저항성 정도는 0에서 9까지 등급으로 조사하였으며, 0은 병반이 없는 경우, 1은 바늘머리 크기의 갈색병반, 3은 직경 1~2 mm 원형 회색병반이 발생한 경우, 5는 전형적인 다이아몬드 병반이 엽면적의 3~10%에 발병한 경우, 7은 전형적인 병반이 엽면적의 26~50%에 발병한 경우, 9는 전형적인 병반이 엽면적의 76% 이상 발병하였거나 고사한 경우로 하였다(IRRI 1988). 이병성 품종은 익산과 운봉에서는 낙동과 호품을 혼합하여 파종하였고, 철원에서는 이병성 품종 추광, 여명, 오대를 혼합하여 파종하였다.

DNA 추출

시험 재료는 육묘 상자에 60~70립씩 파종하고 3~4주 육묘 후 어린잎을 채취하여 CTAB 법으로 DNA를 추출하였다(Murray & Thompson 1980). DNA 양은 BioSpec-nano의 Spectrophotometer를 이용하여 측정하였고(Shimadzu Corporation, Japan), DNA quality는 λ DNA와 함께 1.5% agarose gel에 전기영동하고, EtBr로 염색하여 DNA 밴드가 λ DNA처럼 size marker의 위쪽에 분포하는지를 비교하여 판정하였다.

SNP chip 이용 genotyping

사용된 single-nucleotide polymorphism (SNP, 단일염기다형성) chip은 Nagasaki et al. (2010)이 일본 자포니카 품종 Koshihikari, Rikuu132 및 Eiko 등 3 품종에 대하여 resequencing하고, 이들 전장염기서열을 표준 비교 품종인 Nipponbare의 전장염기서열과 각각 비교하고 SNP 좌위를 탐색하고 이들 SNP 정보를 활용하

여 칩으로 개발한 것이다. 이들 SNP는 자포니카 벼 품종들 간 다형성을 보이는 것으로 12개 염색체 상에 균등히 분포하는 768개 SNP chip으로 구성되어 있다. 94개 BIL 계통과 팔공 및 일품에 대한 SNP 마커 분석 후 genotype data에서 양친의 allele을 따르지 않는 non-parental형 계통은 제외하였다. 분석된 결과에서 monomorphic 하거나 missing data가 10% 이상인 SNP marker를 제외하고 347개 SNP loci에 대한 genotype 결과를 a (major allele, recurrent parent type), b (minor allele) 및 h (hetero allele type)로 전환하였다. BIL 계통들 중 양친과 자가 수정된 것으로 보이는 이상 계통을 제외한 80 BIL 계통을 최종적으로 분석에 이용하였다. 80개 BIL 계통에 대해 monomorphic한 marker를 제외하고 216개 SNP loci에 대한 genotype data를 활용하여 Mapmaker software로 linkage map을 작성하였다. 집단 type은 F₂ intercross로 설정하였고, grouping parameter의 linkage LOD와 마커 간 거리는 Kosambi function을 사용하고 나머지는 default로 설정하였다.

Linkage map 작성

80개 BIL 계통에 대해 216개 SNP loci의 genotype data와 2014년 익산, 철원, 2015년 익산, 운봉 도열병 발못자리 검정 성적을 활용하여 도열병 저항성 관련 QTL를 탐색하였다. QGene 프로그램(Nelson 1997)을 활용하여 SPA (single-point analysis)로 QTL를 탐색하였고 SPA 분석에서 phenotype과 QTL 좌위 간에 P 값이 0.001 보다 작거나 인접하는 두 개 마커들 간에 P 값이 0.05보다 작으면 putative QTLs로 인정하였다. 탐색된 QTL 좌위에 대해 유의성을 높이기 위하여 QTL Cartographer 2.0 (Basten et al. 1997)을 이용하여 CIM (composite interval mapping)을 분석하였다. CIM에 대한 유의한 한계치는 각 형질에 대해 1,000회 순열분석으로 결정하였고 CIM에서 P 값이 0.01 보다 작을 때 평균 LOD 값은 3.80 보다 크고, P 값이 0.05 보다 작을 때 평균 LOD 값은 2.52보다 컸다. 특정한 QTL에 대응하는 관찰된 표현형 변이의 비율은 R^2 값으로 평가하였다. 특정 형질을 설명하는 전체 표현형변이는 그 형질에 대한 모든 putative QTLs를 포함하였다.

결과 및 고찰

BIL 집단에 대한 도열병 저항성 검정

우리나라의 도열병 균계에 30년 이상 내구저항성을 보이는 자포니카 벼 품종 팔공의 저항성 유전자 또는 좌위를 분석하기

위하여 도열병에 약하고 고품질인 일품과 교잡으로 팔공/일품//팔공의 BIL집단을 육성하였다. 이들 BIL 집단은 도열병 발생이 많은 철원, 운봉 및 익산에서 2013년과 2014년 도열병 발못자리 검정으로 잎 도열병의 이병성을 조사하였다. BIL 계통들 중 18 및 19번 계통은 0-1의 저항성, 16번 BIL 계통은 4-5의 중도 저항성, 17번 및 20번 BIL 계통들은 8-9의 이병성이었다(Fig. 2). 저항성 품종 팔공은 이병성이 1-2의 저항성에 분포하였고, 일품은 2013년 철원에서 5, 운봉과 익산에서 7-9의 이병성 반응을 보였다. BIL 집단의 이병성 분포가 0-3의 저항성 반응 쪽으로 편의 되어 분포하며, 이는 저항성 품종 팔공을 여교잡하여 BIL 집단을 육성한 결과로 생각 된다(Fig. 3). 일품은 2013년 철원 검정에서 이병성 반응 5의 중도 저항성을 나타내었으나, 2000-2006년 도열병 검정에서는 7-8의 이병성 반응을 보였다(RDA 2000-2006 지역적응시험보고서). 이는 철원지역에 오랜 기간 조생 벼품종 오대 위주의 영농에 의해 오대와 친화성이 높은 균계의 분화가 이루어진 결과로 생각 된다(Roh et al. 2008).

Fig. 2. Photo of blast nursery screening in BIL population (Iksan, 2014).

Fig. 3. Distribution of incidence to blast nursery screening in BIL population.

SNP linkage map 작성

연관 지도 작성은 일본 자포니카 품종 Nipponbare의 표준 전장염기서열과 Koshihikari, Rikuu132 및 Eiko 등 3 품종에 대한 단일염기 다형성(single-nucleotide polymorphism, SNP) 좌위에 대해 12개 염색체상에 고루 분포하는 768개 SNP chip을 이용하여 94 계통의 BIL 집단 genotyping으로 작성되었다(Nagasaki et al. 2010). Genotype data에서 양친의 allele을 따르지 않는 non-parental형 계통은 제외하였다. 분석된 결과에서 monomorphic 하거나 missing data가 10% 이상인 SNP marker를 제외하고 347개 SNP loci에 대한 genotype 결과를 얻었으며, 80개 BIL 계통 집단으로 연관지도를 작성할 수 있었다(Fig. 4).

216개 마커의 genotyping 결과에 대해 연관군 분석 결과, 모두 14개 연관군으로 나누어졌으며, 이들은 171개 SNP 마커로 구성되었고, 1번과 4번 염색체는 2개 group으로 나누어졌다(Table 1, Fig. 4). 1번 염색체의 연관군 1-1과 1-2는 각각 4개 및 15개 SNP 마커로 구성되었고, 연관군 크기는 36.8 cM 및 146.6 cM이었다. 4번 염색체의 연관군 4-1과 4-2는 각각 6개 및 5개 SNP 마커로 구성되었고, 연관군 크기는 88.7 cM 및 35.9 cM 이었다. 2번, 3번, 5번, 6번, 7번, 10번, 11번 및 12번 등 8개 염색체는 10-23개 마커로 구성된 연관군을 형성하였고, 연관군 크기는 81.2-202.1 cM 이었다. 8번과 9번의 2개 염색체는 각각 10개 및 4개 마커를 포함하는 60.1 cM 및 17.7 cM 크기의

연관군을 형성하였다. 이는 유전분석 집단이 개체 수가 적은 것에 기인하는 것으로 생각된다. 12개 염색체에 대한 14개 연관군은 171개 SNP 마커로 구성된 1,403.2 cM 크기의 연관군으로 마커 간 평균거리는 8.25 cM이었다. 이상의 결과에서 768개 자포니카 유전적 배경의 SNP chip은 유전적 다양성이 협소한 우리나라 자포니카 품종 및 유전자원들 간 교잡으로부터 육성된 분석 집단의 genotyping에도 활용 가능하였으며, chip 내 SNP를 1,500~2,000 여개로 증가시키고 분석 집단의 크기도 200 여개 정도로 확대한다면 효율적인 분석이 가능할 것으로 생각된다.

도열병 저항성 관련 QTL 탐색

BIL 집단의 2013년과 2014년 도열병 발못자리 검정 결과를 이용하여 SNP genotyping 결과와 도열병 저항성 관련 QTL이 탐색 되었으며, 이들 QTLs 좌위들은 12개 염색체 중 5개 염색체상에 위치하였다(Table 2, Fig. 4). 2번, 4번, 7번, 11번 및 12번 염색체상에서 11개 putative QTLs가 확인되었고, 2번 염색체상의 *qBn2.2*와 12번 염색체 상의 *qBn12*을 제외한 9개 QTLs들은 모두 도열병 내구 저항성 자포니카 품종 팔공 allele의 도열병 저항성과 연관되었다. 2013년 익산 검정에 대해 2번 염색체상의 *qBn2.1*과 *qBn2.4*의 두 개 QTLs는 SNP 마커 aa02000707-aa02000735 (30.2 cM, RM6247-RM5862)와 aa02001611-aa02003334 (110.6 cM, RM6617-RM3421) 좌위에서 탐색 되었다. 이들 QTL 좌위들은 표현형 변이의 16.1% 및 12%를 설명하였으며, 팔공 allele이 도열병 저항성을 각각 3.8 및 4.4를 증진시키는 것과 연관이 있었다. QTL *qBn2.2*는 SNP 마커 aa02000735-aa02000854 (50.3 cM, RM438-RM5015) 좌위에서 탐색 되었었고, 2013년 철원 검정에 대해서는 팔공 allele과 연관되었으며, 2014년 익산 검정은 일품 allele의 도열병 저항성과 연관되었다. 2013년 철원 검정에 대한 QTL *qBn2.3*은 SNP 마커 ab02000380-aa02001544 (80.5 cM, RM475-RM5363) 좌위에서 탐색 되었었고, 팔공 allele이 도열병 저항성을 3.7 증진시키면서 표현형 변이 28%를 설명하는 주동 QTL이었다. 탐색된 *qBn2.1* (30.2 cM)의 QTL 좌위에서는 중국 재래벼 Maowanggu로 부터 *Pi14(t)*와 *Pi16(t)* 유전자가 위치하는 것으로 보고되었고(Pan et al. 1996, 1998), major QTL *qBn2.3* (80.5 cM) 좌위에는 *indica* 유전자원 Digu로부터 *Pid1(t)* 유전자가 위치하는 것으로 보고되었다(Chen et al. 2004). QTL *qBn2.4*의 110.6 cM 좌위에 위치하는 유전자에 대한 보고는 없었다. 2번 염색체 150-158 cM 좌위에서는 *Pib*, *Pig(t)*, *Pitq5*, *Piy1(t)*, *Pi25(t)* 등이 위치하는 것으로 보고되었으나(Sallaud et al. 2003, Tabien et al. 2000), 본 연구에서는 저항성 관련 유전자 좌위가

Table 1. Linkage group consisting of 171 SNP markers in 80 BIL lines.

Chromosome. no.	Linkage group	No. of SNP marker	Length (cM)
Chr. 1	1-1	4	36.8
	1-2	15	146.6
Chr. 2	2	23	202.1
Chr. 3	3	12	128.0
Chr. 4	4-1	6	88.7
	4-2	5	35.9
Chr. 5	5	12	81.2
Chr. 6	6	15	135.6
Chr. 7	7	23	139.7
Chr. 8	8	10	60.1
Chr. 9	9	4	17.7
Chr. 10	10	15	84.4
Chr. 11	11	10	106.4
Chr. 12	12	17	140.0
Total		171	1,403.2
Average distance			8.25

Fig. 4. Putative QTLs detected for blast resistance in BIL population.

탐색 되지 않았는데 이는 팔공과 일품 모두 *Pib* 유전자를 가졌기
때문으로 생각 된다(Cho et al. 2007). 2번 염색체 50.3 cM 좌위의
QTL *qBn2.2*는 2013년 철원 검정 결과에서는 팔공 allele에 의해
저항성을 증진시켰으며, 2014년 익산 검정에 대해서는 일품 allele
에 의해 저항성을 증진시키는 것과 연관되어 추가 분석이 필요하다.

4번 염색체상에서는 *qBn4.1*과 *qBn4.2*의 두 개 QTLs가 탐색되었다. aa04002941-aa04005730 (16.7 cM, RM16346-RM16745) 좌위의 QTL *qBn4.1*는 2013년 익산 및 철원 검정과 2014년

온분 검정에 대한 결과로 표현형 변이를 각각 16.1%, 18.8% 및 15.7%를 설명하였고, 팔공 allele이 도열병 저항성을 3.1-4.1 증진시키는 것과 연관이 있었다. 2013년 철원 검정에 대한 QTL *qBn4.2*는 aa04009401-aa04008763 (109.9 cM, RM5709-RM349) 좌위에서 탐색 되었고, 표현형 변이 38.9%를 설명하면서 팔공 allele이 도열병 저항성을 3.8 증진시키는 major QTL로 밝혀졌다. *qBn4.1* 좌위에서는 어떠한 유전자의 정보도 보고되지 않았으나, 표현형 변이 38.9%를 설명하는 major QTL *qBn4.2* 좌위

Table 2. Putative QTLs detected for blast resistance in BIL population.

QTL	Trait	Chr. no.	Flanking marker	Loc. (cM) ^z	No. ^y	LOD	Add.	R ² (%)	Known gene
<i>qBn2.1</i>	13IS	2	aa02000707-aa02000735	30.2	1)	5.79	-3.77	16.1	<i>Pi14(t)</i> , <i>Pi16(t)</i>
<i>qBn2.2</i>	13CW	2	aa02000735-aa02000854	50.3		5.17	-2.58	5.4	-
	14IS					4.55	1.42	1.2	
<i>qBn2.3</i>	13CW	2	ab02000380-aa02001544	80.5	2)	3.37	-3.65	28.0	<i>Pid1(t)</i>
<i>qBn2.4</i>	13IS	2	aa02001611-aa02003334	110.6		3.30	-4.45	12.0	-
<i>qBn4.1</i>	13IS	4	aa04002941-aa04005730	16.7	3)	3.21	-3.11	16.1	-
	13CW					4.83	-3.34	18.8	
	14UB					3.92	-4.12	15.7	
<i>qBn4.2</i>	13CW	4	aa04009401-aa04008763	109.9		5.68	-3.76	38.9	<i>Pi39(t)</i> , <i>qBR4-2</i>
<i>qBn7.1</i>	14UB	7	ac07000428-ac07000431	72.2		3.12	-2.43	9.7	-
<i>qBn7.2</i>	13IS	7	aa07002123-aa07007149	105.6	4)	3.07	-4.01	16.3	<i>Pi17(t)</i>
	14UB					3.25	-3.07	12.5	
<i>qBn11.1</i>	13CW	11	aa11002722-ac11000367	54.3	5)	4.09	-3.61	41.4	<i>PiCO39(t)</i> , <i>Piy(t)</i> , <i>Pilm-2</i> , <i>Pi30(t)</i> ,
	14UB					6.44	-4.73	45.8	
<i>qBn11.2</i>	13IS	11	aa11007380-aa11004506	99.2	6)	6.87	-4.42	56.7	<i>PikK-h</i> , <i>Pi44(t)</i> , <i>Pi54</i> , <i>Pb1</i>
<i>qBn12</i>	13IS	12	aa12001361-aa12004168	39.4		3.49	2.68	1.5	<i>Pi6(t)</i> , <i>Pi12(t)</i> , <i>Pi21(t)</i> , <i>Pitq6</i>

^zcM from TIGER.

^y1) http://ensembl.gramene.org/Oryza_sativa/Location/View?r=2:5602152-5602184;tl=3dbFJJCQfrddC3VV-111994-36453780 (aa02000707), 2) [http://ensembl.gramene.org/Tools/Blast?db=core#\(ab02000380\)2.1](http://ensembl.gramene.org/Tools/Blast?db=core#(ab02000380)2.1) http://ensembl.gramene.org/Oryza_sativa/Location/View?r=2:22533216-22533248;tl=PI8dyiYgCzDyotv5-112007-36454873 (aa02001544), 3) http://ensembl.gramene.org/Oryza_sativa/Location/View?r=4:5377231-377263;tl=IbORbwFNGM3saFKw-111997-36453791 (aa04002941), 4) http://ensembl.gramene.org/Oryza_sativa/Location/View?r=7:19825482-19825514;tl=1ASBUtxW3ut8tpBV-111999-36454037 (aa07002123), 5) http://ensembl.gramene.org/Oryza_sativa/Location/View?r=11:9053318-9053350;tl=IHzXebA61jZZ94kt-112004-36454821 (aa11002722), 6) http://ensembl.gramene.org/Oryza_sativa/Location/View?r=11:26199257-26199289;tl=RVawVDHz2uAOnidf-112005-36454834 (aa11007380).

에서는 *Pi39(t)* 유전자와 QTL *qBR4-2*가 위치하는 것으로 보고 되었다(Terashima et al. 2008).

7번 염색체상에서 2013년 익산 및 2014년 운봉 검정에 대해 *qBn7.1*과 *qBn7.2*의 두 개 QTLs 좌위들이 탐색 되었다. 2014년 운봉 검정 결과에 대한 *qBn7.1*은 ac07000428-ac07000431 (56.2 cM, RM2-RM6361) 좌위에 위치하였고, 이는 표현형 변이 9.7%를 설명하면서 팔공 allele이 도열병 저항성을 2.4 증진시켰다. *qBn7.2*는 2013년 익산 및 2014년 운봉 검정 관련 QTL은 aa07002123-aa07007149 (71.6 cM, C451-RM3552) 좌위에 위치하였고, 각각 표현형 변이 16.3%와 12.5%를 설명하면서 팔공 allele이 도열병 저항성을 각각 4 및 3.1 증진시켰다. 7번 염색체상에 위치하는 유전자는 Kasalath로부터 *Pi17(t)* 유전자가 94-104 cM 좌위에 보고되었고(Pan et al. 1995), 본 연구의 *qBn7.2* (105.6 cM) 좌위와 일치하는 것으로 나타났다.

11번 염색체상에서도 2013년 익산 및 철원, 2014년 운봉 검정 결과에 대한 QTL이 두 개 좌위에서 탐색 되었다(Table

2). 2013년 철원 및 2014년 운봉 검정 결과에 대한 *qBn11.1*은 aa11002722-ac11000367 (54.3 cM, RM202-RM6272) 위치에 탐색 되었고, 이들은 표현형 변이를 각각 41.4% 및 45.8%를 설명하면서 팔공 allele이 도열병 저항성을 3.6 및 4.7씩 증가시키는 major QTL이었다. *qBn11.2*는 99.2 cM 좌위(aa11007380-aa11004506, RM254-S12886)에서 2013년 익산 도열병 검정과 관련하여 표현형 변이 56.7%를 설명하는 팔공 allele이 도열병 저항성을 4.4 증가시키는 major QTL로 밝혀졌다. 이 염색체에서는 *qBn11.1* (54.3 cM) 좌위에는 *PiCO39(t)*, *Piy(t)*, *Pilm-2* 및 *Pi30(t)* 유전자들이 위치하는 것으로 보고되었으며(Chauhan et al. 2002, Sallaud et al. 2003, Tabien et al. 2000), *qBn11.2* (99.2 cM) 좌위에는 *Pik-h*, *Pi44(t)*, *Pi54* 및 *Pb1* 유전자 등이 위치하는 것으로 보고 되었다(Chen et al. 1999, Sharma et al. 2005, Vasudevan et al. 2015).

12번 염색체상의 QTL *qBn12*는 2013년 익산 검정과 관련된 것으로 aa12001361-aa12004168 (39.4 cM, RM3455-RM2935)

좌위에 위치하였고, 표현형 변이 1.5%를 설명하는 일품 allele이 도열병 저항성을 2.7 증진시키는 것과 연관이 있었다. 이 염색체 상에서 *Pi6(t)*, *Pi12(t)*, *Pi21(t)* 및 *Pitq-6* 등의 유전자 위치하는 것으로 보고되었다(Inukai & Nelson 1994, Tabien et al. 2000, Yu et al. 1991).

표현형 변이 28-56.7%를 설명하는 *qBn2.3*, *qBn4.2*, *qBn11.1* 및 *qBn11.2* 등 4개 major QTLs 좌위에는 1-4개의 저항성 관련 유전자 및 QTL들이 위치하는 것으로 보고되었다(Chauhan et al. 2002, Chen et al. 1999, Chen et al. 2004, Fjellstrom et al. 2004, Sallaud et al. 2003, Sharma et al. 2005, Tabien et al. 2000, Terashima et al. 2008). 이들 중 4번 염색체의 *qBn4.2* 좌위에서 보고된 *Pi39(t)*와 *qBR4-2*는 포장 저항성 유전좌위들로 광범위 군계에 저항성이 있다고 하였으며(Terashima et al. 2008), 11번 염색체 *qBn11.2* QTL 좌위에는 목도열병 내구 저항성 *Pb1* 유전자와 내구 저항성 또는 광범위 군계 저항성 품종들로부터 탐색된 *PiK-h*, *Pi44(i)* 및 *Pi54* 등의 유전자가 위치하는 것으로 보고되었다(Chen et al. 1999, Lee et al. 2015, Sharma et al. 2005, Vasudevan et al. 2015). 이상의 결과로 팔공 alleles에 의한 저항성 QTL 좌위 *qBn4.2* (Chr. 4)와 *qBn11.2* (Chr. 11)도 내구 저항성 또는 광범위 군계 저항성 관련 좌위로 추정되었다.

팔공의 도열병 내구저항성은 표현형 변이 28-56.7%를 설명하는 4개 major QTLs *qBn2.3*, *qBn4.2*, *qBn11.1* 및 *qBn11.2* 등과 팔공 고유의 도열병 저항성 유전 요소들로 추정되는 *qBn2.4*, *qBn4.1* 및 *qBn7.1* 등 3개 저항성 관련 QTLs 유전좌위들이 관여하는 것으로 생각된다. 또한 팔공이 보유하는 *Pib* (Chr. 2, 150-158 cM)와 *Pia* (Chr. 11, 36 cM) 유전자들(Cho et al. 2007)도 저항성 증진에 관여할 것으로 추정된다. 팔공이 줄무늬잎마름병에 저항성을 보인 것(Lee 1997)은 *qBn11.2* (Chr. 11, 99.2 cM) 좌위 부근에 위치하는 것으로 보고된 *Snv-i* 유전자에 의한 것으로 생각된다(Saito et al. 2000). 본 연구에서 탐색된 팔공 allele의 9개 저항성 QTLs 좌위들에서 병 저항성 관련 candidate gene 탐색과 저항성 품종 개발에 활용할 수 있는 DNA 마커 개발 등이 앞으로 추진되어야 할 것이다.

적 요

우리나라의 도열병 군계에 내구저항성을 보이는 자포니카 벼 품종 팔공의 저항성 유전좌위를 분석한 결과, 팔공 allele에 의한 저항성 관련 putative QTLs가 2번, 4번, 7번, 11번 염색체 상에서 9개 좌위들이 확인되었다. 팔공의 allele에 의한 도열병

저항성 연관 유전자좌들 중 *qBn2.3* (Chr. 2), *qBn4.2* (Chr. 4), *qBn11.1* 및 *qBn11.2* (Chr. 11) 등 4개 좌위는 표현형 변이의 28-56.7%를 설명하는 major QTL이었고, 이들 좌위에서는 1-4 개의 저항성 관련 유전자들이 위치하는 것으로 보고되었다. 팔공 allele의 5개 QTLs *qBn2.1*, *qBn2.4* (Chr. 2), *qBn4.1* (Chr. 4), *qBn7.1* 및 *qBn7.2* (Chr. 7) 등은 표현형 변이를 9.7-18.8% 설명하였으며, 이들 좌위들 중 2번 염색체 상의 *qBn2.1*를 제외한 4개 QTLs 좌위에서는 다른 유전자의 보고가 없어 팔공 고유의 도열병 저항성 관련 유전 요소들로 추정 된다. 팔공의 도열병 내구 저항성은 2번, 4번, 7번, 11번 염색체 상의 9개 QTLs들의 상호 작용에 의한 것으로 생각되며, 특히 목도열병 내구 저항성 유전자 *Pb1*이 위치하는 것으로 보고된 좌위의 *qBn11.2*는 표현형 변이 56.7%를 설명하였고 내구저항성에서 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 팔공의 줄무늬잎마름병 저항성은 *qBn11.2* 좌위의 *Snv-i* 유전자에 의한 것으로 생각된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01133101) 지원에 의해 이루어진 결과이며, 자포니카 유전적 배경의 SNP chip 분석에 도움을 주신 일본 생물자원연구소 M. Yano 박사님께 감사드립니다(We thanks to Dr. M. Yano of NARO Institute of Agrobiological Science, Japan for analysing SNP chip of japonica genetic background).

REFERENCES

1. Ashkani S, Rafii MY, Shabanimofrad M, Ghasemzadeh A, Ravanfar SA, Latif MA. 2016. Molecular progress on the mapping and cloning of functional genes for blast disease in rice (*Oryza sativa* L.): current status and future considerations. Critical Rev Biotechnol 36: 353-367.
2. Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, Kanamori H, Wu J, Matsumoto T, Ono K, Yano M. 2008. Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer *Pikm*-specific rice blast resistance. Genetics 180: 2267-2276.
3. Basten C, Weir B, Zeng Z. 1997. QTL Cartographer: a reference manual and tutorial for QTL mapping. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
4. Chauhan R, Farman M, Zhang H, Leong S. 2002. Genetic

- and physical mapping of a rice blast resistance locus, *Pi-CO39(t)*, that corresponds to the avirulence gene AVR1-CO39 of *Magnaporthe grisea*. Mol Genet Genomics 267: 603-612.
5. Chen D, Dela Vina M, Inukai T, Mackill D, Ronard P, Nelson R. 1999. Molecular mapping of the blast resistance gene, *Pi44(t)*, in a derived from a durably resistant rice cultivar. Theor Appl Genet 98: 1046-1053.
6. Chen X, Li S, Xu J, Zhai W, Ling Z, Ma B, Wang Y, Wang W, Cao G, Ma Y, Shang J, Zao X, Zhou K, Zhu L. 2004. Identification of two blast resistance genes in a rice variety, Digu. Phytopathol 152: 77-85.
7. Cho YC, Kwon SW, Choi IS, Lee SK, Jeon JS, Oh MK, Roh JH, Hwang HG, Yang SJ, Kim YG. 2007. Identification of major blast resistance genes in Korean rice varieties (*Oryza sativa* L.) using molecular markers. J Crop Sci Biotech 10: 265-276.
8. Deng Y, Zhu X, Shen Y, He Z. 2006. Genetic characterization and fine mapping of the blast resistance locus *Pigm(t)* tightly linked to *pi2* and *pi9* in a broad-spectrum resistant Chinese variety. Theor Appl Genet 113: 705-713.
9. Fjellstrom R, Conaway-Bormans C, McClung A, Marchetti M, Shank A, Park W. 2004. Development of DNA markers suitable for marker assisted selection of three Pi genes conferring resistance to multiple *Pyricularia grisea* pathotypes. Crop Sci 44: 1790-1798.
10. Han SS, Ryu JD, Shim HS, Lee SW, Hong YK, Hong YK, Cha KH. 2001. Breakdown of resistance of rice cultivars by new race KI-1117a and race distribution of rice blast fungus during 1999~2000 in Korea. Res Plant Dis 7: 86-92.
11. Hua L, Wu J, Chen C, Wu W, He X, Lin F, Wang L, Ashikawa I, Matsumoto T, Wang L, Pan Q. 2012. The isolation of *Pi1*, an allele at the *Pik* locus which confers broad spectrum resistance to rice blast. Theor Appl Genet 125: 1047-1055.
12. Inukai T, Nelson R. 1994. Mapping for blast resistance gene H-3 derived from rice cultivar Pai-Kan-Tao. Rep Hokkaido Br Crop Sol See Japan Jap Soc Breed 35: 54-55.
13. IRRI (International Rice Research Institute). 1988. Standard evaluation system for rice. 3rd edition. The International Rice Testing Program 54: 1-8.
14. Koide Y, Kobayashi N, Xu D, Fukuta Y. 2009. Resistance genes and selection DNA markers for blast Disease in rice (*Oryza sativa* L.). JARQ 43: 255-280.
15. Lee JH, Lee JY, Yoon YN, Kim SY, Hur YJ, Yeo US, Son YB, Song YC, Park DS, Nam MH, Cho JH. 2015. Enhancement of panicle blast resistance in Korean rice cultivar 'Saeilmi' by marker assisted backcross breeding. Plant Breed Biotech 3: 1-10.
16. Lee SK. 1997. A japonica variety, Palgongbyeon of high yield and rice stripe virus resistance. Annual Exposition of New Recommended Variety, RDA, pp. 26-28.
17. Lee SK, Song MY, Seo YS, Kim HK, Ko S, Cao PJ, Suh JP, Yi G, Roh JH, Lee S, An G, Hahn TR, Wang GL, Ronald P, Jeon JS. 2009. Rice *Pi5*-mediated resistance to *Magnaporthe oryzae* requires the presence of two coiled-coil-nucleotide-binding-leucinerich repeat genes. Genetics 181: 1627-1638.
18. Murray MG, Thompson WF. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res 8: 4321-4325.
19. Nagasaki H, Ebana K, Shibaya T, Yonemaru J, Yano M. 2010. Core single-nucleotide polymorphisms-a tool for genetic analysis of the Japanese rice population. Breeding Sci 60: 648-655.
20. Nelson J. 1997. QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. Mol Breeding 3: 239-245.
21. Okuyama Y, Kanzaki H, Abe A, Yoshida K, Tamiru M, Saitoh H, Fujibe T, Matsumura H, Shenton M, Galam DC, Undan J, Ito A, Sone T, Terauchi R. 2011. A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice *Pia*-blast resistance gene consisting of two adjacent NBS-LRR protein genes. Plant J 66: 467-479.
22. Pan Q, Tanisaka T, Ikehashi H. 1995. Studies on the genetics and breeding of blast resistance in rice IV. Gene analysis for the blast resistance of a indica variety Kasalath. Breeding Sci 45: 170.
23. Pan Q, Wang L, Ikehashi H, Tanisaka T. 1996. Identification of a new blast resistance gene in the indica rice cultivar Kasalath using Japanese differential cultivars and isozyme markers. Phytopathol 86: 1071-1075.
24. Pan Q, Wang L, Ikehashi H, Yamagata H, Tanisaka T. 1998. Identification of two new genes conferring resistance to rice blast in the Chinese native cultivar "Maowangu". Plant Breeding 117: 27-31.
25. Roh JH, Cho YC, Oh IS, Kim YG, Han SS, Vera Cruz C, Leung H. 2008. Blast reactivation of Korean rice cultivars against Korean and philippines isolates. Korean J Breed Sci 40: 394-400.
26. Rural Development Administration (RDA). 2000-2006. Annual Report for Regional Adaptability Test in Cereal Crop.

27. Saito YH, Saito K, Nakamura S, Kawasaki S, Iwasaki M. 2000. Fine physical mapping of the rice stripe resistance gene locus, *Stvb-i*. Theor Appl Genet 101: 59-63.
28. Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, Tharreau D, Berruyer R, Svestasrani P, Garsmeur O, Ghesquiere A, Notteghem JL. 2003. Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. Theor Appl Genet 106: 794-803.
29. Sharma TR, Madhav MS, Singh BK, Shanker P, Jana TK, Dalal V, Pandit A, Singh A, Gaikwad K, Upreti HC, Singh NK. 2005. High-resolution mapping, cloning and molecular characterization of the *Pi-k(h)* gene of rice, which confers resistance to *Magnaporthe grisea*. Mol Genet Genomics 274: 569-578.
30. Shim HS, Yeh WH, Yoo BJ, Myung IS, Hong SK, Lee SD. 2012. Pathogenic races of *Pyricularia oryzae* isolated from various rice cultivars on the blast nursery and paddy field in different locations. Res Plant Dis 18: 324-330.
31. Skamnioti P, Gurr SJ. 2009. Against the grain: safeguarding rice from rice blast disease. Trends Biotechnol 7: 141-150.
32. Tabien R, Li Z, Paterson A, Marchetti M, Stansel J, Pinson S, Park WD. 2000. Mapping of four major rice blast resistance genes from 'Lemont' and 'Teqing' and evaluation of their combinatorial effect for field resistance, Theor Appl Genet 101: 1215-1225.
33. Takahashi A, Hayashi N, Miyao A, Hirochika H. 2010. Unique features of the rice blast resistance *Pish* locus revealed by large scale retro transposon-tagging. BMC Plant Biol 10: 175.
34. Terashima T, Fukuoka S, Saka N, Kudo S. 2008. Mapping of a blast field resistance gene *Pi39(t)* of elite rice strain Chubu 111. Plant Breeding 127: 485-489.
35. Valent B, Chumley FG. 1991. Molecular genetic analysis of the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. Annu Rev Phytopathol 29: 443-467.
36. Vasudevan K, Gruissem W, Bhullar NK. 2015. Identification of novel alleles of the rice blast resistance gene *Pi54*. Sci Rep 5: 15678.
37. Wang X, Lee SH, Wang JC, Ma J, Bianco T, Jia Y. 2014. Current advances on genetic resistance to rice blast disease. pp. 195-217. In: Wengui, Y.(ed.). Rice: Germplasm, Genetics and Improvement. IntechOpen, London, United Kingdom.
38. Wang Y, Wang D, Deng X, Liu J, Sun P, Liu Y, Huang H, Jong N, Kang H, Ning Y, Wang Z, Xiao Y, Liu X, Liu E, Dai L, Wang GL. 2012. Molecular mapping of the blast resistance genes *Pi2-1* and *Pi51(t)* in the durably resistant rice 'Tianjinyesshengdao'. Phytopathol 102: 779-786.
39. Yu Z, Mackill D, Bonman J, Tanksley S. 1991. Tagging genes for blast resistance in rice via linkage to RFLP markers. Theor Appl Genet 81: 471-476.
40. Yuan B, Zhai C, Wang W, Zeng X, Xu X, Hu H, Lin F, Wang L, Pan Q. 2011. The *Pik-p* resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice is mediated by a pair of closely linked CCNBS-LRR genes. Theor Appl Genet 122: 1017-1028.
41. Zeigler RS, Scott RP, Leung H, Bordeos A, Kumar J. and Nelson RJ. 1997. Evidence of parasexual exchange of DNA in the rice blast fungus challenges its exclusive clonality. Phytopathol 87: 284-294.
42. Zhao H, Wang X, Jia Y, Mikenberg B, Yang Y. 2018. The rice blast resistance gene *ptr* encodes an atypical protein required for broad-spectrum disease resistance. Nat Comm 9: 2039.